



IN THE U.S. PATENT AND TRADEMARK OFFICE

I N F O R M A T I O N S H E E T

Applicant: ICHIKAWA, Naoya
 MIYAMOTO, Yoshiaki
 HAYASHI, Masaharu

Application No.:

Filed: November 8, 2001

For: METHOD OF PREPARING LOW ALLERGIC NATURAL RUBBER LATEX AND
 DEPROTEINIZED NATURAL RUBBER LATEX, AND LOW ALLERGIC NATURAL
 RUBBER AND DEPROTEINIZED NATURAL RUBBER

Priority Claimed Under 35 U.S.C. 119 and/or 120:

COUNTRY	DATE	NUMBER
JAPAN	11/08/00	2000-340729
JAPAN	11/08/00	2000-340730
JAPAN	11/08/00	2000-340731
JAPAN	11/08/00	2000-340732

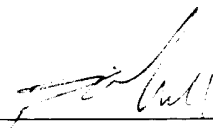
Send Correspondence to: BIRCH, STEWART, KOLASCH & BIRCH, LLP
 P. O. Box 747
 Falls Church, Virginia 22040-0747
 (703) 205-8000

The above information is submitted to advise the USPTO of all relevant facts in connection with the present application. A timely executed Declaration in accordance with 37 CFR 1.64 will follow.

Respectfully submitted,

BIRCH, STEWART, KOLASCH & BIRCH, LLP

By


ANDREW D. MEIKLE

Reg. No. 32,868

P. O. Box 747

Falls Church, VA 22040-0747

/nv

(703) 205-8000

日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出願年月日

Date of Application:

2000年11月 8日

出願番号

Application Number:

特願2000-340729

出願人

Applicant(s):

住友ゴム工業株式会社
花王株式会社

JPO
971 U.S. PTO
09/986374
11/08/01

2001年 9月20日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

及川耕造

出証番号 出証特2001-3086914

【書類名】 特許願

【整理番号】 104532

【提出日】 平成12年11月 8日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 C08C 1/04

【発明者】

 【住所又は居所】 兵庫県神戸市中央区協浜町3丁目6番9号 住友ゴム工業株式会社内

 【氏名】 市川 直哉

【発明者】

 【住所又は居所】 兵庫県神戸市中央区協浜町3丁目6番9号 住友ゴム工業株式会社内

 【氏名】 宮本 芳明

【特許出願人】

 【識別番号】 000183233

 【住所又は居所】 兵庫県神戸市中央区協浜町3丁目6番9号

 【氏名又は名称】 住友ゴム工業株式会社

【特許出願人】

 【識別番号】 000000918

 【住所又は居所】 東京都中央区日本橋茅場町一丁目14番10号

 【氏名又は名称】 花王株式会社

【代理人】

 【識別番号】 100075155

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 亀井 弘勝

【選任した代理人】

 【識別番号】 100087701

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 稲岡 耕作

【選任した代理人】

【識別番号】 100101328

【弁理士】

【氏名又は名称】 川崎 実夫

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 010799

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9401973

【ブルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 低アレルギー性天然ゴムラテックスの製造方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

天然ゴムラテックスにエキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼを添加して熟成させることにより、当該ラテックス中の蛋白質を、数平均分子量が 4 5 0 0 以上である蛋白質および蛋白質分解物が検出されないレベルにまで分解することを特徴とする低アレルギー性天然ゴムラテックスの製造方法。

【請求項 2】

蛋白質を分解した後、ラテックス中の蛋白質およびその分解物を除去する請求項 1 記載の低アレルギー性天然ゴムラテックスの製造方法。

【請求項 3】

蛋白質およびその分解物の除去を遠心分離処理により行う請求項 2 記載の低アレルギー性天然ゴムラテックスの製造方法。

【請求項 4】

エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼによる処理前に、ラテックスの pH を中性領域に調整する請求項 1 ～ 3 のいずれかに記載の低アレルギー性天然ゴムラテックスの製造方法。

【請求項 5】

前記エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼは、アスペルギルス (*Aspergillus*) 属またはリゾプス (*Rhizopus*) 属に属する微生物が産生するものである請求項 1 ～ 4 のいずれかに記載の低アレルギー性天然ゴムラテックスの製造方法。

【請求項 6】

前記アスペルギルス属に属する微生物は、アスペルギルス・オリゼ (*Aspergillus oryzae*) に属する微生物である請求項 5 記載の低アレルギー性天然ゴムラテックスの製造方法。

【請求項 7】

前記アスペルギルス属に属する微生物は、アスペルギルス・メルス (*Aspergil*

lus mellus) に属する微生物である請求項 5 記載の低アレルギー性天然ゴムラテックスの製造方法。

【請求項 8】

前記リゾプス属に属する微生物は、リゾプス・オリゼ (Rhizopus oryzae) に属する微生物である請求項 5 記載の低アレルギー性天然ゴムラテックスの製造方法。

【請求項 9】

前記蛋白質の分解処理を界面活性剤の存在下で行う請求項 1 ～ 8 のいずれかに記載の低アレルギー性天然ゴムラテックスの製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、アレルギーを誘発するおそれをほとんど有しない天然ゴムラテックスの製造方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

天然ゴムは伸びが大きい、弾性が高い、皮膜の強さが良好である等の特徴を有することから、手袋等の家庭用品、手術用手袋、各種カテーテル等の医療用具、授乳用具、避妊具等に幅広く利用されている。一方、天然ゴムからなる手術用手袋、カテーテル等の医療用具を使用すると、呼吸困難やアナフィラキシー様症状（血管性浮腫、じんましん、チアノーゼ等）などの即時型（I 型）アレルギーを引き起こす場合のあることが報告されており、かかる即時型アレルギーは天然ゴムに含まれる蛋白質が抗原となって誘発されると推測されている。

【0003】

そこで、近年、天然ゴム中の蛋白質を高度に除去することが試みられており、特許第 2 9 0 5 0 0 5 号（特開平 6 - 5 6 9 0 2 号公報）には、天然ゴムラテックス中にアルカリプロテアーゼ等の蛋白分解酵素と、界面活性剤とを加えて蛋白分解処理を施し、次いで遠心分離処理等によってラテックスを十分に洗浄する方法が提案されている。

上記特許公報に記載の方法によれば、天然ゴム中の蛋白質を高いレベルで分解、除去することができ、具体的には、天然ゴムに含まれる蛋白質の量をケルダール法 (Kjeldahl's method) による窒素含有量 (N%) で表したときに、0.02% 以下の極めて低い値とすることができる。なお、一般に天然ゴムは、その数平均分子量 $\langle M_n \rangle$ が 100 万 ~ 250 万の高分子量成分と、10 万 ~ 20 万の低分子量成分との混合体であって、前者の高分子量成分は、低分子量成分が天然ゴムに含まれているペプチド分子等を介して相互に結合したものと推測されている。ここで、本来の生合成で生成したと考えられる低分子量成分の分子量を 10 万とし、この低分子量成分のゴム 1 分子に対して分子間結合に介在するペプチド分子が 1 分子、すなわち窒素原子 (原子量 14) が 1 原子結合したと仮定すると、天然ゴムの窒素含有量が 0.014% となる。従って、たとえ高度な脱蛋白処理を施したとしても不可避免的に 0.02% 程度の窒素は残存すると考えられる。

【0004】

また、上記公報に記載の方法で脱蛋白処理を施した場合、処理後の天然ゴムラテックスを用いて成膜されたゴムフィルムからは、ポリペプチドに特有な 3280^{-1} cm の赤外吸収スペクトルが観察されない。従って、上記公報に記載の方法によれば、蛋白質の分解・除去が高度に達成されていることがわかる。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、上記特許公報に記載の方法をはじめとする従来公知の種々の脱蛋白処理を経て蛋白質を分解、除去した場合であっても、依然として、アレルギー性を示すおそれのあることが、最近の研究により明らかとなった。

そこで本発明者らは、

(i) 従来の方法による脱蛋白処理が施された天然ゴムラテックス中にどの程度の蛋白質およびその分解物が残存しているのかを確認すべく、飛行時間 (TOF) 型質量分析計と二次元表面修飾チップとを組み合わせた蛋白質の解析システムによって分析するとともに、

(ii) 従来の方法による脱蛋白処理が施された天然ゴムラテックスのアレルギー性について確認すべく、パッチテスト等による従来のインビボ (in vivo) での測

定に代えて、ヒト患者の血清を用いた抗原-抗体反応に基づくインビトロ (in vitro) での測定を行った。

【0006】

その結果、従来の方法によって脱蛋白処理を施した場合であっても、

(I) 数平均分子量 $\langle M_n \rangle$ が4500~4700程度である蛋白質または蛋白質分解物が残存しており、蛋白質が十分に分解されていないこと、しかも、

(II) 脱蛋白処理後においても、即時型アレルギーを誘発するのに十分な量のアレルゲン性蛋白が含まれていること、

が明らかとなった。

【0007】

なお、「アレルゲン性蛋白」とは、本発明において以下のように定義される。

天然ゴムラテックスの試料中に存在する全ての蛋白質およびその分解物（以下、

「全蛋白」という。）中には、ヒト血清中に抗体を産生し得る「抗原蛋白」の群が含まれる。また、ヒト血清中に産生する抗体は、アレルギー反応を誘発し得るIgEクラスの抗体と、アレルギー反応を誘発しないIgEクラスの抗体とに分類される。ここで、「抗原蛋白」の中で、アレルギー反応の原因となり得るIgEクラスの抗体を産生する抗原蛋白については、他の抗原蛋白と区別するために「アレルゲン性蛋白」と称する。

【0008】

そこで、本発明の目的は、アレルゲン性蛋白を実質的に含有せず、それゆえアレルギーを誘発するおそれが極めて低い天然ゴムラテックスの製造方法を提供することである。

【0009】

【課題を解決するための手段および発明の効果】

上記課題を解決するための本発明に係る低アレルギー性天然ゴムラテックスの製造方法は、天然ゴムラテックスにエキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼを添加して熟成させることにより、当該ラテックス中の蛋白質を、数平均分子量が4500以上である蛋白質および蛋白質分解物が検出されないレベルにまで分解することを特徴とする。

【 0 0 1 0 】

従来の脱蛋白処理に用いられていたプロテアーゼ（蛋白分解酵素）は主にバクテリア（細菌）が産生するプロテアーゼであって、これらのプロテアーゼはアルカリ領域に至適 pH を有しており、しかもエンドペプチダーゼ活性を有するもののエキソペプチダーゼ活性を示さないものであった。従来の脱蛋白処理で主として上記のアルカリプロテアーゼが用いられていたのは、(a) 天然ゴムのフィールドラテックスは、一旦濃縮された後、ラテックスの凝固と腐敗の防止を目的としてアンモニアを添加したいわゆるアンモニアラテックスとして供給されており、ラテックス自体がアルカリ性を示すものであったこと、(b) それゆえ、蛋白質の分解処理には、ゴム分子の凝固を避けるべく、アルカリ領域に至適 pH を有するいわゆるアルカリプロテアーゼを用いる必要があったこと、などに起因している。なお、従来の脱蛋白処理に用いられていた市販のアルカリプロテアーゼの特性を表 1 に示す。

【 0 0 1 1 】

【表 1】

酵素を産出した細菌 酵素の商品名	活 性		使 用 p H	使用温度 (°C)
	エンド	エキソ		
<i>Bacillus subtilis</i> バイオプラーゼ *4	◎	—	8.1~12	50~70
<i>Bacillus subtilis</i> プロレザーFG-F *3	◎	—	8.6~12	53~67
<i>Bacillus subtilis</i> PW-102 *1	◎	—	9.0~12	30~50
<i>Bacillus subtilis</i> N「アマノ」 *3	◎	—	6.6~8.2	48~62
<i>Bacillus sp</i> サビナーゼ *2	◎	—	7.7~12	47~58
<i>Bacillus licheniformis</i> アルカラゼ *2	◎	—	6.1~11	48~66
<i>Bacillus letus</i> エスペラーゼ *2	◎	—	7.2~10	52~65
<i>Bacillus stearothermo</i> S「アマノ」 *3	◎	—	6.6~9.5	62~77

製造元 1: 花王(株), 2: ノボルディスクバイオインダストリー(株),
3: 天野製薬(株), 4: ナガセ生化学(株)

活 性 ◎: 非常に高い, ○: 高い, —: 活性なし

酵素を産出した細菌の名称は、前半が属、後半が種を示す。

【0 0 1 2】

これに対し、本発明者らは、従来のアルカリプロテアーゼに代えて、エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼを用いて蛋白質の分解処理を試みた結果、意外にも、数平均分子量<M_n>が4 5 0 0以上の蛋白質および蛋白質分解物が実質的に存在しないレベルにまで蛋白質の分解を行うことができ、それゆえアレルギーを誘発するおそれをほとんど有しない天然ゴムラテックスを得ることができるという全く新たな事実を見出し、前述の低アレルギー性天然ゴムラテックスの製造方法に係る発明を完成するに至ったものである。

【0 0 1 3】

本発明において、蛋白質および蛋白質分解物の検出は、通常、質量分析法によ

って、好ましくは飛行時間（TOF）型質量分析計と二次元表面修飾チップとを組み合わせた蛋白質の解析システム〔例えば、サイファージェン・バイオシステムズ（株）製の蛋白質構造解析装置「プロテインチップTMシステム」〕を用いて行われる。前記「プロテインチップTMシステム」によれば、天然ゴムラテックス 1 mL 当たり 0.1 μ g 程度しか存在しない微量の蛋白質についても検出することができる。

【0014】

なお、特開平 9-71604 号公報には、天然ゴムラテックスに界面活性剤を添加し、さらに中和剤を添加して pH を調整した後、蛋白分解酵素を添加してラテックス中の蛋白質を分解する旨の記載がある。しかしながら、上記公報には酵素を用いた蛋白質の分解処理について一般的な記載しかなく、かかる処理によって蛋白質の分子量がどの程度低減されたのかについては一切触れられていない。また、上記公報に記載の発明は、酵素による蛋白質の分解処理後、ラテックスに加硫剤を配合して成形、加硫を行い、その後に希アルカリ水中に浸漬して分解蛋白質の抽出するという、抽出処理に特徴を有するものである。

【0015】

上記本発明に係る低アレルギー性天然ゴムラテックスの製造方法においては、蛋白質を分解した後でラテックス中の蛋白質およびその分解物を除去するのが、アレルギー性をより一層低減させるという観点から好ましい。また、かかる除去処理は、遠心分離処理によって行われるのがその除去効果および除去処理の効率の観点から好ましい。

上記本発明に係る低アレルギー性天然ゴムラテックスの製造方法においては、エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼによる処理前に、ラテックスの pH を中性領域（具体的には pH 6～9）に調整するのが好ましい。これは、エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼの多くが中性領域に、具体的には pH 6～9、より好ましくは pH 6.5～8.5 程度の領域に至適 pH を有しており、それゆえラテックスの pH が中性領域にあれば蛋白質分解処理の効果を高めることができるからである。

【0016】

本発明に用いられるエキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼは、糸状菌（カビ）の一種であるアスペルギルス属（*Aspergillus*；コウジカビ属）またはリゾプス属（*Rhizopus*；クモノスカビ属）に属する微生物が産生するものであるのが好ましい。かかる糸状菌に由来するペプチダーゼは蛋白質の高度な分解を実現するのに好適である。

エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼは、上記の属に属する微生物が産生するものの中でも、特にアスペルギルス・オリゼ（*Aspergillus oryzae*）に属する微生物が産生するもの、アスペルギルス・メルス（*Asp. mellus*）に属する微生物が産生するもの、またはリゾプス・オリゼ（*Rhizopus oryzae*）に属する微生物が産生するもの、であるのがより好ましい。

【0017】

上記本発明に係る低アレルギー性天然ゴムラテックスの製造方法においては、ラテックス中にてゴム分子を安定に分散させ、それにより蛋白質の分解効果を向上させるという観点から、蛋白質の分解処理を界面活性剤の存在下で行うのが好ましい。

【0018】

【発明の実施の形態】

次に、本発明に係る低アレルギー性天然ゴムラテックスの製造方法について詳細に説明する。

〔エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼ〕

本発明に用いられる蛋白質を分解するための酵素は、エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼである。

【0019】

さらに本発明においては、エキソペプチダーゼとともにエンドペプチダーゼによる分解も併せて行うことにより、蛋白質の分子量の低減効果や分解効率をより一層向上させることができる。本発明の製造方法には、例えばエキソペプチダーゼ活性とエンドペプチダーゼ活性とが共存するプロテアーゼを用いるのが好適である。

上記エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼをその起源から限定するな

らば、前述のように、糸状菌の一種であるアスペルギルス属 (*Aspergillus* ; コウジカビ属) またはリゾプス属 (*Rhizopus* ; クモノスカビ属) に属する微生物が産生するプロテアーゼであるのが好ましい。

【 0 0 2 0 】

上記アスペルギルス属に属する微生物としては、例えばアスペルギルス・オリゼ (*Aspergillus oryzae*) 、アスペルギルス・メルス (*Asp. mellus*) 、アスペルギルス・ニガー (*Asp. niger*) 、アスペルギルス・アワモリ (*Asp. awamori*) 、アスペルギルス・グラウクス (*Asp. glaucus*) 、アスペルギルス・フラブス (*Asp. flavus*) 、アスペルギルス・ソジャエ (*Asp. sojae*) 等が挙げられる。

【 0 0 2 1 】

また、上記リゾプス属に属する微生物としては、例えばリゾプス・オリゼ (*Rhizopus oryzae*) 、リゾプス・ジャバニクス (*Rhi. javanicus*) 、リゾプス・デレマー (*Rhi. delemar*) 、リゾプス・ニグリカンス (*Rhi. nigricans*) 等が挙げられる。

本発明に用いられるエキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼは、上記の中でも、特にアスペルギルス・オリゼ (*Asp. oryzae*) 、アスペルギルス・メルス (*Asp. mellus*) またはリゾプス・オリゼ (*Rhi. oryzae*) に属する微生物が産生するものであるのが好ましい。

【 0 0 2 2 】

上記エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼについて、市販されているものの特性を示す。

【 0 0 2 3 】

【表 2】

酵素を産出した糸状菌 酵素の商品名	活 性		使 用 p H	使用温度 (°C)
	エンド	エキソ		
<i>Asperigillus oryzae</i> A「アマノ」G *3	○	○	5.4~10	46~58
<i>Asperigillus oryzae</i> M「アマノ」*3	○	◎	3.0~6.2	35~62
<i>Asperigillus oryzae</i> ウミザイム *3	○	◎	6.2~8.2	30~60
<i>Asperigillus oryzae</i> フレーバーザイム *2	○	○	4.5~7.7	38~58
<i>Asperigillus mellus</i> P「アマノ」3G *3	○	○	6.0~9.2	37~49
<i>Rhizopus oryzae</i> ペプチターゼ R *3	○	◎	6.2~7.4	30~50

製造元 1: 花王(株), 2: ノボルディスクバイオインダストリー(株),
3: 天野製薬(株), 4: ナガセ生化学(株)

活 性 ◎: 非常に高い, ○: 高い, —: 活性なし

酵素を産出した細菌の名称は、前半が属、後半が種を示す。

【0 0 2 4】

〔原料ラテックス〕

本発明の低アレルギー性天然ゴムラテックスを得るための出発原料となる天然ゴムラテックスは、天然のゴムの木から得られたラテックスを意味し、当該ラテックスには新鮮なフィールドラテックスや、市販のアンモニア処理ラテックス等のいずれをも使用することができる。

〔蛋白分解処理の方法〕

(蛋白質の分解処理)

本発明の製造方法において、エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼによる蛋白質の分解処理は、前述のプロテアーゼを単独でまたは2種以上混合した上で天然ゴムラテックス中に添加し、数時間～1週間程度熟成することによって行われる。

【0 0 2 5】

エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼの添加量は、そのペプチダーゼ活性に応じて設定されるものであって特に限定されるものではないが、通常、フィールドラテックスやアンモニア処理ラテックスのゴム固形分に対して約 0.001 ~ 10 重量%の割合となるように設定すればよい。上記プロテアーゼの添加量が 0.001 重量%を下回ると蛋白質を分解する効果が十分に得られなくなるおそれがある。逆に、添加量が 10 重量%を超えると酵素の量が多くなりすぎてコストアップにつながるとともに、酵素活性も低下するおそれがある。

【0026】

本発明に使用するエキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼについてのペプチダーゼ活性は特に限定されるものではないが、30 u/g 以上 (LGG 法) であるのが好ましい。

上記プロテアーゼによる蛋白質分解処理時のラテックスの pH は、使用するプロテアーゼの至適 pH に応じて設定される。前述のエキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼは、その多くが中性領域に、具体的には pH 6 ~ 9、より好ましくは pH 6.5 ~ 8.5 の範囲に至適 pH を有するいわゆる中性プロテアーゼであることから、当該プロテアーゼによる処理を施すラテックスについてもその pH を中性領域に、具体的には pH 6 ~ 9、より好ましくは pH 6.5 ~ 8.5 の範囲に調整するのが好ましい。ラテックスの pH を中性領域に調整するには、ラテックス中に例えばリン酸二水素ナトリウム、ホルマリン、希塩酸等を添加すればよい。

【0027】

上記プロテアーゼによる蛋白質分解処理時のラテックスの温度は、使用するプロテアーゼの至適温度に応じて設定されるものであって特に限定されるものではないが、通常、5 ~ 90℃に設定するのが好ましく、20 ~ 60℃に設定するのがより好ましい。

安定剤としての界面活性剤は、上記プロテアーゼによる蛋白質分解処理の前にあらかじめ、または上記プロテアーゼによる処理中に、必要に応じて、0.01 ~ 10 重量%の範囲で添加すればよい。

【0028】

(蛋白質および蛋白質分解物の除去処理)

蛋白質の分解処理を終えた天然ゴムラテックスには、さらに遠心分離、ゴム分の凝固、限外ろ過等の処理を施してもよい。かかる処理により、ゴム分と、蛋白質およびその分解物とを分離し、かつ、除去することができる。かかる除去処理を施すことによって、より一層アレルギー性の低い天然ゴムラテックスとして供給することができる。

【0029】

蛋白質および蛋白質分解物の除去処理を遠心分離により行う場合において、遠心分離処理の回数は1回行えば十分であるが、ゴム分の損失および歩留まりの低下に伴う不利益を被ることのない範囲であれば2回以上行ってもよい。

〔界面活性剤〕

本発明の低アレルギー性天然ゴムを製造するために蛋白質の分解処理を行う際には、エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼによる処理を施す前にまたは処理中に、安定化剤としての界面活性剤をラテックス中に添加するのが好ましい。とりわけ、アンモニア処理ラテックスのpHを中性領域に調整する場合、または蛋白質の分解処理を行う場合にあっては、ゴム分の凝固を防止する上で界面活性剤の添加が望まれる。

【0030】

上記界面活性剤としては、従来公知の種々のアニオン界面活性剤、ノニオン界面活性剤およびカチオン界面活性剤が挙げられ、特に限定されるものではないが、エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼの多くが中性領域に至適pHを有するものであることから、中性領域において、好ましくはpHが6.5～8.5の範囲において安定した界面活性を示すものを用いるのが好ましい。

以下、本発明に使用可能な界面活性剤を示す。以下に例示の界面活性剤は単独で用いるほか、2種以上を混合して用いることもできる。

【0031】

(アニオン界面活性剤)

アニオン界面活性剤には、例えばカルボン酸系、スルホン酸系、硫酸エステル系、リン酸エステル系等が挙げられる。

カルボン酸系のアニオン界面活性剤としては、例えば炭素数が6以上、30以下である脂肪酸塩、多価カルボン酸塩、ロジン酸塩、ダイマー酸塩、ポリマー酸塩、トール油脂肪酸塩などが挙げられ、中でも炭素数10～20のカルボン酸塩が好適である。炭素数が6を下回ると蛋白質および不純物の分散・乳化作用が不十分となるおそれがあり、炭素数が30を超えると水に分散させにくくなるおそれがある。

【0032】

スルホン酸系のアニオン界面活性剤としては、例えばアルキルベンゼンスルホン酸塩、アルキルスルホン酸塩、アルキルナフタレンスルホン酸塩、ナフタレンスルホン酸塩、ジフェニルエーテルスルホン酸塩等が挙げられる。

硫酸エステル系界面活性剤としては、例えばアルキル硫酸エステル塩、ポリオキシアルキレンアルキル硫酸エステル塩、ポリオキシアルキレンアルキルフェニルエーテル硫酸塩、トリスチレン化フェノール硫酸エステル塩、ポリオキシアルキレンジスチレン化フェノール硫酸エステル塩等が挙げられる。

【0033】

リン酸エステル系のアニオン界面活性剤としては、アルキルリン酸エステル塩、ポリオキシアルキレンリン酸エステル塩等が挙げられる。

これらの化合物の塩としては、金属塩（Na, K, Ca, Mg, Zn等）、アンモニウム塩、アミン塩（トリエタノールアミン塩等）などが挙げられる。

（ノニオン界面活性剤）

ノニオン界面活性剤には、例えばポリオキシアルキレンエーテル系、ポリオキシアルキレンエステル系、多価アルコール脂肪酸エステル系、糖脂肪酸エステル系、アルキルポリグリコシド系等が挙げられる。

【0034】

ポリオキシアルキレンエーテル系のノニオン界面活性剤としては、例えばポリオキシアルキレンアルキルエーテル、ポリオキシアルキレンアルキルフェニルエーテル、ポリオキシアルキレンポリオールアルキルエーテル、ポリオキシアルキレンジスチレン化フェノールエーテル、ポリオキシアルキレンジスチレン化フェノールエーテル、ポリオキシアルキレントリスチレン化フェノールエーテル等が挙

げられる。前記ポリオールとしては炭素数 2 ～ 1 2 の多価アルコールが挙げられ、例えばプロピレングリコール、グリセリン、ソルビトール、シュクロース、ペンタエリトリトール、ソルビタン等が挙げられる。

【 0 0 3 5 】

ポリオキシアルキレンエステル系のノニオン界面活性剤としては、例えばポリオキシアルキレン脂肪酸エステル等が挙げられる。

多価アルコール脂肪酸エステル系のノニオン界面活性剤としては、炭素数が 2 ～ 1 2 である多価アルコールの脂肪酸エステルまたはポリオキシアルキレン多価アルコールの脂肪酸エステルが挙げられる。より具体的には、例えばソルビトール脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル、脂肪酸モノグリセライド、脂肪酸ジグリセライド、ポリグリセリン脂肪酸エステル等が挙げられる。また、これらのポリアルキレンオキサイド付加物（例えばポリオキシアルキレンソルビタン脂肪酸エステル、ポリオキシアルキレングリセリン脂肪酸エステル等）も使用可能である。

【 0 0 3 6 】

糖脂肪酸エステル系のノニオン界面活性剤としては、例えばショ糖、グルコース、マルトース、フラクトース、多糖類の脂肪酸エステル等が挙げられ、これらのポリアルキレンオキサイド付加物も使用可能である。

アルキルポリグリコシド系のノニオン界面活性剤としては、例えばアルキルグルコシド、アルキルポリグルコシド、ポリオキシアルキレンアルキルグルコシド、ポリオキシアルキレンアルキルポリグルコシド等が挙げられ、これらの脂肪酸エステル類も挙げられる。また、これらのポリアルキレンオキサイド付加物も使用可能である。

【 0 0 3 7 】

これらのノニオン界面活性剤におけるアルキル基としては、例えば炭素数 4 ～ 3 0 のアルキル基が挙げられる。また、ポリオキシアルキレン基としては、炭素数 2 ～ 4 のアルキレン基を有するものが挙げられ、例えば酸化エチレンの付加モル数が 1 ～ 5 0 モル程度のものが挙げられる。脂肪酸としては、例えば炭素数が 4 ～ 3 0 の直鎖または分岐した飽和または不飽和の脂肪酸が挙げられる。

(カチオン界面活性剤)

カチオン界面活性剤には、例えばアルキルアミン塩型、アルキルアミン誘導体
型およびそれらの第4級化物、ならびにイミダゾリニウム塩型等が挙げられる。

【0038】

アルキルアミン塩型のカチオン界面活性剤としては、第1級アミン、第2級ア
ミンおよび第3級アミンの塩が挙げられる。

アルキルアミン誘導体型のカチオン界面活性剤は、エステル基、エーテル基、
アミド基のうちの少なくとも1つを分子内に有するものであって、例えばポリオ
キシアルキレン(AO)アルキルアミンおよびその塩、アルキルエステルアミン
(AO付加物を含む)およびその塩、アルキルエーテルアミン(AO付加物を含
む)およびその塩、アルキルアミドアミン(AO付加物を含む)およびその塩、
アルキルエステルアミドアミン(AO付加物を含む)およびその塩、アルキルエ
ーテルアミドアミン(AO付加物を含む)およびその塩等が挙げられる。

【0039】

前記塩の種類としては、例えば塩酸塩、リン酸塩、酢酸塩、アルキル硫酸エス
テル、アルキルベンゼンスルホン酸、アルキルナフタレンスルホン酸、脂肪酸、
有機酸、アルキルリン酸エステル、アルキルエーテルカルボン酸、アルキルアミ
ドエーテルカルボン酸、アニオン性オリゴマー、アニオン性ポリマー等が挙げら
れる。アルキルアミン誘導体型カチオン界面活性剤のうち、酢酸塩の具体例とし
ては、例えばココナットアミンアセテート、ステアリルアミンアセテート等が挙
げられる。上記アルキルアミン塩型およびアルキルアミン誘導体型カチオン界面
活性剤におけるアルキル基は特に限定されるものではないが、通常炭素数8～2
2の、直鎖状、分岐鎖状またはゲルベ状のものが挙げられる。

【0040】

上記アルキルアミン塩型およびアルキルアミン誘導体型カチオン界面活性剤の
第4級化物としては、上記アルキルアミン塩およびアルキルアミン誘導体を、例
えばメチルクロライド、メチルブロマイド、ジメチル硫酸、ジエチル硫酸等で第
4級化したものが挙げられる。具体的には、ラウリルトリメチルアンモニウムハ
ライド、セチルトリメチルアンモニウムハライド、ステアリルトリメチルアンモ

ニウムハライド等のアルキルトリメチルアンモニウムハライド；ジステアリルジメチルアンモニウムハライド等のジアルキルジメチルアンモニウムハライド；トリアルキルメチルアンモニウムハライド；ジアルキルベンジルメチルアンモニウムハライド；アルキルベンジルジメチルアンモニウムハライド等が挙げられる。

【0041】

イミダゾリニウム塩型のカチオン界面活性には、例えば2-ヘプタデセニルヒドロキシシルエチルイミダゾリン等が挙げられる。

上記例示の界面活性剤の中でも、特に、pHが6.5～8.5の範囲において安定した界面活性を示すものとしては、例えば、ノニオン界面活性剤であるポリオキシエチレンノニルフェニルエーテル、アニオン界面活性剤であるポリオキシエチレンアルキルフェニルエーテル硫酸ナトリウム等が挙げられる。

【0042】

〔他の添加剤〕

本発明の低アレルギー性天然ゴムラテックスの製造方法においては、上記例示の各成分のほかにも、必要に応じて他の添加剤を配合することができる。

かかる他の添加剤としては、例えばpH調整剤としての、リン酸第一カリウム、リン酸第二カリウム、リン酸ナトリウム等のリン酸塩；酢酸カリウム、酢酸ナトリウム等の酢酸塩；硫酸、酢酸、塩酸、硝酸、クエン酸、コハク酸等の酸類またはその塩；アンモニア、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム等が挙げられる。また、酵素としての、リパーゼ、エステラーゼ、アミラーゼ、ラッカーゼ、セルラーゼ等が挙げられる。さらに、分散剤としての、スチレンスルホン酸共重合体、ナフタレンスルホン酸ホルマリン縮合物、リグニンスルホン酸、多環式芳香族スルホン酸共重合体、アクリル酸および無水マレイン酸のホモポリマー／共重合体、イソブチレン-アクリル酸、イソブチレン-無水マレイン酸共重合体等が挙げられる。

【0043】

〔蛋白質分解処理の程度とアレルギー性〕

上記本発明の製造方法に従ってエキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼによる蛋白質の分解処理が施された低アレルギー性天然ゴムラテックスには、ケ

ルダール法による窒素含有量（N %）で比較した場合に、対照となる天然ゴムラテックスと同程度の蛋白質が残存している。

しかしながら、本発明の方法により得られる低アレルギー性天然ゴムラテックスは、分子量の大きな蛋白質およびアレルギー性蛋白の含有量が、従来の方法による脱蛋白処理が施された脱蛋白天然ゴムラテックスに比べて極めて低い。具体的には、本発明の方法によって得られる低アレルギー性天然ゴムラテックスからは、数平均分子量 $\langle M_n \rangle$ が4 5 0 0 以上である蛋白質および蛋白質分解物が検出されない。

【0 0 4 4】

なお、従来の方法による脱蛋白処理（酵素処理1回、遠心分離処理1回）が施された脱蛋白天然ゴムラテックス（ゴム固形分濃度約3 0 %）では、後述する比較例より明らかなように、数平均分子量 $\langle M_n \rangle$ が4 5 0 0 以上である蛋白質および蛋白質分解物が検出される。一方、本発明の方法によって蛋白質の分解処理（酵素処理1回、遠心分離処理なし）が施された天然ゴムラテックスでは、後述する実施例より明らかなように、数平均分子量 $\langle M_n \rangle$ が4 5 0 0 以上である蛋白質および蛋白質分解物は検出されない。

【0 0 4 5】

上記のように数平均分子量 $\langle M_n \rangle$ が4 5 0 0 以上の蛋白質および蛋白質分解物が検出されないというレベルは、蛋白質に起因するアレルギーの問題が実質的に生じない程度に蛋白質が分解されていることを示す。すなわち、本発明の低アレルギー性天然ゴムラテックスは、ラテックス中に残存する総蛋白質量が多いものの、蛋白質に起因する即時性アレルギーを招くおそれは極めて低くなっている。

【0 0 4 6】

本発明の製造方法によって蛋白質の分解処理を施した場合には、前述のように、数平均分子量が4 5 0 0 以上である蛋白質および蛋白質分解物を検出できず、本発明のより好ましい条件によれば、数平均分子量が2 0 0 0 以上、さらに好ましくは1 5 0 0 以上である蛋白質および蛋白質分解物を検出できない程度に蛋白質を分解することができる。

また、本発明の製造方法によって蛋白質の分解処理を施した場合には、ラスト阻害法 (RAST-inhibition 法) により測定されるアレルギー性蛋白の含有量指数を $10 \mu\text{g/g}$ 以下、好ましくは $5 \mu\text{g/g}$ 以下、より好ましくは $2 \mu\text{g/g}$ 以下にまで低減させることができる。

【0047】

なお、一般に、アレルギー性蛋白の含有量指数が $10 \mu\text{g/g}$ 以下であれば、実質的に蛋白質に起因するアレルギーを生じるおそれが高いと考えられる。

ここで「アレルギー性蛋白の含有量指数」とは、天然ゴムラテックス中に存在する蛋白質のうち、ヒト血清に対して IgE クラスの抗体を産生させ得る (抗原となり得る) 蛋白質の含有量の程度を、一般のハイアンモニアラテックス (HA ラテックス) を基準にして示した指標であって、アレルギー度を相対的に示した値である。

【0048】

天然ゴムラテックス中に存在する蛋白質については、その総量と溶出蛋白質の総量とを分析によって求めることができるものの、アレルギー性蛋白と非アレルギー性蛋白との量を個別に定量することができない。そこで、天然ゴムラテックスのアレルギー性については、通常天然ゴムラテックス、ここでは HA ラテックスを基準とするアレルギー度の相対値として評価することとなる。

上記「アレルギー性蛋白の含有量指数」は、Pharmacia Cap system を用いた競争的ラスト免疫阻害法 [Competitive RAST-immunoinhibition 法, (X. Baur et Al., Allergy, 52, 661-664 (1997) 参照)] に基づいて算出されるものであって、具体的には、以下のようにして算出される。

【0049】

まず、基準サンプルとして HA ラテックス (上記文献ではノンアンモニア天然ゴムラテックス) の抽出液を使用し、これにヒト血清中の IgE 抗体を混合して熟成させることにより、HA ラテックス中のアレルギー性蛋白と前記 IgE 抗体との抗原-抗体反応を進行させる。なお、前記 IgE 抗体の供給源には、ラテックスアレルギーを有する者の血清を用いる。次いで、抗原-抗体反応を起こさずに残存した IgE 抗体と固相の Immuno-Cap ラテックス抗原とを反応させ、さらに

、固定化された I g E 抗体に酵素 (β -D-ガラクトシダーゼ) でラベルされた抗 I g E 抗体とを結合させて、蛍光強度の測定により残存する I g E 抗体の量を測定する。この測定値により、H A ラテックスの溶出蛋白質についてのアレルギー性の度合いが求められる。このアレルギー性の度合いを、上記 H A ラテックスの希釈度が異なる数種のサンプルについて測定して、較正曲線を作成する。一方、測定試料である天然ゴムラテックスについても上記と同様にしてアレルギー性の度合いを求める。その結果、例えば H A ラテックスの溶出総蛋白量がゴム 1 g 当り $10 \mu\text{g}$ であるときのアレルギー度と同等であれば、測定試料についてのアレルギー性蛋白の含有量指数が $10 \mu\text{g/g}$ となる。

【0050】

【実施例】

次に、実施例および比較例を挙げて本発明に係る低アレルギー性天然ゴムラテックスの製造方法について説明する。

以下の実施例および比較例において、天然ゴムラテックスには、マレーシア国産のフィールドラテックス、またはソクテック (マレーシア国) 社製のハイアンモニアラテックス [ゴム分濃度 60.2 重量%、アンモニア分 0.7%] を使用した。

【0051】

界面活性剤には、ノニオン界面活性剤として東邦化学工業 (株) 製の商品名「T r i t o n X-100」を、それぞれ使用した。

〔低アレルギー性天然ゴムラテックスの製造〕

実施例 1

(蛋白質分解処理のみ)

フィールドラテックスのゴム分 100 重量部に対してノニオン界面活性剤 1.0 重量部と 0.12% のナフテン酸ソーダとを添加し、ラテックスを安定化させた後、5% リン酸二水素ナトリウム水溶液でラテックスの pH を 7.0 に調整した。次いで、このラテックスのゴム分 100 重量部に対してエキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼ 0.1 重量部を添加し、30℃ で 24 時間静置して熟成させることにより、蛋白質の分解処理が施された低アレルギー性天然ゴムラテ

ックスを得た。

【0052】

前記プロテアーゼには、エキソペプチダーゼ活性およびエンドペプチダーゼ活性を有しかつ中性領域に至適pHを有するものであって、アスペルギルス・オリゼ (*Aspergillus oryzae*) に属する微生物が産生するプロテアーゼ〔天野製薬(株)製の商品名「ウマミザイム」〕を使用した(表2参照)。このプロテアーゼは、ペプチダーゼ活性が70u/g以上(pH7.0, LGG(L-Leucyl-Glycyl-Glycine)法)であった。

【0053】

(蛋白質分解処理および除去処理)

上記の、蛋白質の分解処理が施された低アレルギー性天然ゴムラテックスをノニオン界面活性剤の1%水溶液で希釈し、当該ラテックスのゴム分の濃度を10%にした後、13000rpmで30分間遠心分離処理を施した。こうして分離した上層のクリーム分を取り出して同量の水に再分散させることにより、蛋白質の分解および除去処理が施された低アレルギー性天然ゴムラテックスを得た。

【0054】

実施例2

(蛋白質分解処理のみ)

ハイアンモニアラテックス(以下、「HAラテックス」という。)をゴム分の濃度が30重量%となるように希釈し、当該ラテックスのゴム分100重量部に対してノニオン界面活性剤1.0重量部と0.12%のナフテン酸ソーダ(安定化剤)を添加して安定化させた後、5%リン酸二水素ナトリウム水溶液でラテックスのpHを7.0に調整した。次いで、このラテックスのゴム分100重量部に対してプロテアーゼ(前出の「ウマミザイム」)0.1重量部を添加し、30℃で24時間静置して熟成させることにより、蛋白質の分解処理が施された低アレルギー性天然ゴムラテックスを得た。

【0055】

(蛋白質分解処理および除去処理)

上記の、蛋白質の分解処理が施された低アレルギー性天然ゴムラテックスをノ

ニオン界面活性剤の1%水溶液で希釈し、当該ラテックスのゴム分の濃度を10%にした後、13000rpmで30分間遠心分離処理を施した。こうして分離した上層のクリーム分を取り出して同量の水に再分散させることにより、蛋白質の分解および除去処理が施された低アレルギー性天然ゴムラテックスを得た。

【0056】

実施例3

(蛋白質分解処理のみ)

エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼとして、前出の「ウミザイム」に代えてアスペルギルス・メルス (*Aspergillus mellus*) に属する微生物が産生するプロテアーゼ〔天野製薬(株)製の商品名「P「アマノ」3G」〕を使用し、その添加量をラテックスのゴム分100重量部に対して0.1重量部としたほかは、実施例1と同様にして(すなわち、フィールドラテックスを出発原料として)蛋白質の分解処理を行い、低アレルギー性天然ゴムラテックスを得た。

【0057】

前記プロテアーゼ「P「アマノ」3G」は、蛋白消化力が10000u/g以上(pH7.0, 天野法)であって、表2に示したように、エキソペプチダーゼ活性およびエンドペプチダーゼ活性を有しかつ中性領域に至適pHを有するプロテアーゼである。

(蛋白質分解処理および除去処理)

上記の、蛋白質の分解処理が施された低アレルギー性天然ゴムラテックスに対し、実施例1と同様にして希釈処理と、遠心分離処理と、再分散処理とを施すことにより、蛋白質の分解および除去処理が施された低アレルギー性天然ゴムラテックスを得た。

【0058】

実施例4

(蛋白質分解処理のみ)

エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼとして、前出の「ウミザイム」に代えて前出の「P「アマノ」3G」を使用し、その添加量をラテックスのゴム分100重量部に対して0.1重量部としたほかは、実施例2と同様にして(

すなわち、H A ラテックスを出発原料として）蛋白質の分解処理を行い、低アレルギー性天然ゴムラテックスを得た。

【 0 0 5 9 】

（蛋白質分解処理および除去処理）

上記の、蛋白質の分解処理が施された低アレルギー性天然ゴムラテックスに対し、実施例 2 と同様にして希釈処理と、遠心分離処理と、再分散処理とを施すことにより、蛋白質の分解および除去処理が施された低アレルギー性天然ゴムラテックスを得た。

実施例 5

（蛋白質分解処理のみ）

エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼとして、前出の「ウマミザイム」に代えてリゾプス・オリゼ（*Rhizopus oryzae*）に属する微生物が産生するプロテアーゼ〔天野製薬（株）製の商品名「ペプチダーゼ R」〕を使用し、その添加量をラテックスのゴム分 1 0 0 重量部に対して 0. 1 重量部としたほかは、実施例 1 と同様にして（すなわち、フィールドラテックスを出発原料として）蛋白質の分解処理を行い、低アレルギー性天然ゴムラテックスを得た。

【 0 0 6 0 】

前記プロテアーゼ「ペプチダーゼ R」は、ペプチダーゼ活性が 4 2 0 u / g 以上（p H 7. 0, L G G 法）であって、表 2 に示したように、エキソペプチダーゼ活性およびエンドペプチダーゼ活性を有しかつ中性領域に至適 p H を有するプロテアーゼである。

（蛋白質分解処理および除去処理）

上記の、蛋白質の分解処理が施された低アレルギー性天然ゴムラテックスに対し、実施例 1 と同様にして希釈処理と、遠心分離処理と、再分散処理とを施すことにより、蛋白質の分解および除去処理が施された低アレルギー性天然ゴムラテックスを得た。

【 0 0 6 1 】

実施例 6

（蛋白質分解処理のみ）

エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼとして、前出の「ウミザイム」に代えて前出の「ペプチダーゼR」) を使用し、その添加量をラテックスのゴム分 1 0 0 重量部に対して 0. 1 重量部としたほかは、実施例 2 と同様にして (すなわち、HA ラテックスを出発原料として) 蛋白質の分解処理を行い、低アレルギー性天然ゴムラテックスを得た。

【 0 0 6 2 】

(蛋白質分解処理および除去処理)

上記の、蛋白質の分解処理が施された低アレルギー性天然ゴムラテックスに対し、実施例 2 と同様にして希釈処理と、遠心分離処理と、再分散処理とを施すことにより、蛋白質の分解および除去処理が施された低アレルギー性天然ゴムラテックスを得た。

比較例 1

(蛋白質分解処理のみ)

フィールドラテックスのゴム分 1 0 0 重量部に対してアルカリプロテアーゼ 0. 1 重量部と、ノニオン界面活性剤 1. 0 重量部と、0. 1 2 % のナフテン酸ソーダとを添加して安定化させた。

【 0 0 6 3 】

前記アルカリプロテアーゼには、バクテリア由来のプロテアーゼであって、バチルス属のバクテリアの一種である *Bacillus licheniformis* に属する微生物が産生するプロテアーゼ〔ノボノルディスクバイオインダストリー (株) 製の商品名「アルカラーゼ 2. 0 M」〕を使用した。このアルカリプロテアーゼは力価が 2. 0 A U / g (p H 8. 3) であって、表 1 に示したように、アルカリ領域に至適 p H を有しており、かつエンドペプチダーゼ活性を有するもののエキソペプチダーゼ活性を有しないものである。

【 0 0 6 4 】

次いで、リン酸二水素ナトリウムによって p H を 9. 2 に調整した後、3 0 ° C で 2 4 時間静置することによって熟成させることにより、蛋白質の分解処理が施された天然ゴムラテックスを得た。

(蛋白質分解処理および除去処理)

上記の、蛋白質の分解処理が施された天然ゴムラテックスをノニオン界面活性剤の1%水溶液で希釈し、当該ラテックスのゴム分の濃度を10%にした後、13000rpmで30分間遠心分離処理を施した。こうして分離した上層のクリーム分を水に再分散させることによって、蛋白質の分解および除去処理が施された天然ゴムラテックスを得た。

【0065】

〔蛋白質分解処理の評価〕

（窒素含有量の測定）

上記実施例および比較例において、遠心分離処理後に生じたクリーム分を水に再分散させたラテックスを使用し、このラテックスをガラスプレート上に流延してキャストフィルムを作製した。

これらのキャストフィルムを含有率測定用のサンプルとした。

【0066】

また、実施例1および比較例1については、蛋白質分解処理のみを施したラテックスを使用して上記と同様のキャストフィルムを作成し、このフィルムについても窒素含有率測定用のサンプルとした。

さらに、蛋白分解処理や洗浄処理を施していないフィールドラテックスおよびHAラテックスから直接キャストフィルムを作成して、これを対照のサンプルとした。

【0067】

実施例、比較例および対照の各サンプルについて、その窒素含有量（N%）をRRIM試験法（Rubber Research Institute of Malaysia(1973). 'SMR Bulletin No.7'）によって測定した。

窒素含有量（N%）の測定結果を表3に示す。

（アレルゲン性蛋白の含有量指数の測定）

ラスト阻害法（RAST-inhibition 法）に基づいて、上記実施例および比較例で得られた天然ゴムラテックスに含まれるアレルゲン性蛋白の含有量指数を測定した。「アレルゲン性蛋白の含有量指数」の測定は、前述のPharmacia Cap systemを用いた競合的免疫阻害法により、ドイツBGFA（職業医療研究所）にて実施

した。

【 0 0 6 8 】

なお、実施例 1 および比較例 1 では、蛋白質分解処理のみを施したラテックスについても同様にしてアレルギー性蛋白の含有量指数を算出した。

アレルギー性蛋白の含有量指数の測定結果を表 3 に示す。

【 0 0 6 9 】

【表 3】

ラテックスの種類	プロテアーゼ		蛋白質 除去 処理	窒素 含有量 (N%)	アレルギー性 蛋白質の 含有量指数
	種 類	添加量*1 (重量部)			
実施例 1	フィールドラテックス	ウマミザイム	0.1	なし	356 $\mu\text{g/g}$
				あり	4.3 $\mu\text{g/g}$
実施例 2	HA ラテックス	ウマミザイム	0.1	あり	2.6 $\mu\text{g/g}$
実施例 3	フィールドラテックス	P「アマノ」3G	0.1	あり	3.9 $\mu\text{g/g}$
実施例 4	HA ラテックス	P「アマノ」3G	0.1	あり	2.5 $\mu\text{g/g}$
実施例 5	フィールドラテックス	ベブチダーゼ R	0.1	あり	3.7 $\mu\text{g/g}$
実施例 6	HA ラテックス	ベブチダーゼ R	0.1	あり	2.3 $\mu\text{g/g}$
比較例 1	フィールドラテックス	アルカラールゼ 2.0M	0.1	なし	982 $\mu\text{g/g}$
				あり	21.1 $\mu\text{g/g}$
対 照 1	フィールドラテックス	—	—	あり*2	>8000 $\mu\text{g/g}$
対 照 2	HA ラテックス	—	—	あり*2	1060 $\mu\text{g/g}$

*1:プロテアーゼの添加量（重量部）は、ラテックスのゴム分 100 重量部に対する値である。

*2: 単なる濃縮によって蛋白質を除去したものである。

【0 0 7 0】

表 3 より明らかなように、実施例 1 の低アレルギー性天然ゴムラテックスは、

比較例 1 の、従来の酵素を用いた処理による脱蛋白天然ゴムラテックスと比べて窒素含有量 (N %) が同程度であるものの、アレルギー性蛋白の含有量指数が著しく低くなっていた。

また、実施例 1 においては、酵素処理を施しただけの場合であっても、対照 2 に示す通常の HA ラテックスよりもアレルギー性蛋白の含有量が著しく低くなっており、従来の酵素処理を施したもの (比較例 1 の蛋白質除去処理なし) よりも低くなっていた。

【0071】

それゆえ、蛋白質に起因するアレルギーを誘発するおそれが著しく低減されていることがわかった。

(蛋白質の分子量分析)

上記実施例 1 および比較例 1 で得られた天然ゴムラテックスについて、飛行時間 (TOF) 型質量分析計と二次元表面修飾チップとを組み合わせた蛋白質の解析システム [サイファージェン・バイオシステムズ (株) 製の蛋白質構造解析装置「プロテインチップTMシステム」] により、数平均分子量 $\langle M_n \rangle$ が 4 5 0 0 ~ 4 7 0 0 の範囲を中心にして不純物の有無を分析した。

【0072】

上記「プロテインチップTMシステム」による蛋白質の分子量分析は、次のようにして行った。(1) まず、天然ゴムラテックスの漿液のサンプルをチップ上に吸着させ、次いで(2) 吸着した蛋白質のみが残存するように洗浄用の緩衝液 (washing buffer) で洗浄し、(3) 吸着蛋白質上にエネルギー吸収物質を塗布し、さらに(4) レーザーを照射してチップ上の蛋白質をイオン化した上で、(5) TOF 型質量分析器を用いて分子量を測定した。

【0073】

残存する蛋白質および蛋白質分解物についての数平均分子量 $\langle M_n \rangle$ の分析結果については、実施例 1 の、蛋白質分解処理のみを施した低アレルギー性天然ゴムラテックスから得られた試料についての測定結果を図 1 に、実施例 1 の、蛋白質分解処理と除去処理とを施した低アレルギー性天然ゴムラテックスから得られた試料についての測定結果を図 2 に、比較例 1 の、従来の酵素を用いた処理によ

る脱蛋白天然ゴムラテックスから得られた試料についての測定結果を図 3 に、それぞれ示す。

【0 0 7 4】

また、対照として、蛋白分解処理および洗浄処理を施していない H A ラテックスから得られた試料について分子量分析を行った。その測定結果を図 4 に示す。

上記分子量分析の測定結果より明らかなように、比較例 1（図 3）では数平均分子量 $\langle M_n \rangle$ が約 4 7 0 0 のところ（蛋白質の存在を示す箇所）にピークが存在していた。これに対し、実施例 1 の蛋白分解処理のみ行った場合（図 1）と、さらに蛋白質およびその分解物の除去処理を行った場合（図 2）とでは、いずれも数平均分子量 $\langle M_n \rangle$ が 4 5 0 0 以上の領域でピークは見られなかった。特に、蛋白分解処理に加えて蛋白質およびその分解物の除去処理を行った場合（図 2）では、数平均分子量 $\langle M_n \rangle$ が 1 5 0 0 ～ 4 5 0 0 の領域でも顕著なピークは見られなかった。

【図面の簡単な説明】

【図 1】

実施例 1 で得られた、蛋白質分解処理のみを施した低アレルギー性天然ゴムラテックスについての、残存する蛋白質および蛋白質分解物の数平均分子量 $\langle M_n \rangle$ の測定結果を示すチャート図である。

【図 2】

実施例 1 で得られた、蛋白質分解処理と除去処理とを施した低アレルギー性天然ゴムラテックスについての、残存する蛋白質および蛋白質分解物の数平均分子量 $\langle M_n \rangle$ の測定結果を示すチャート図である。

【図 3】

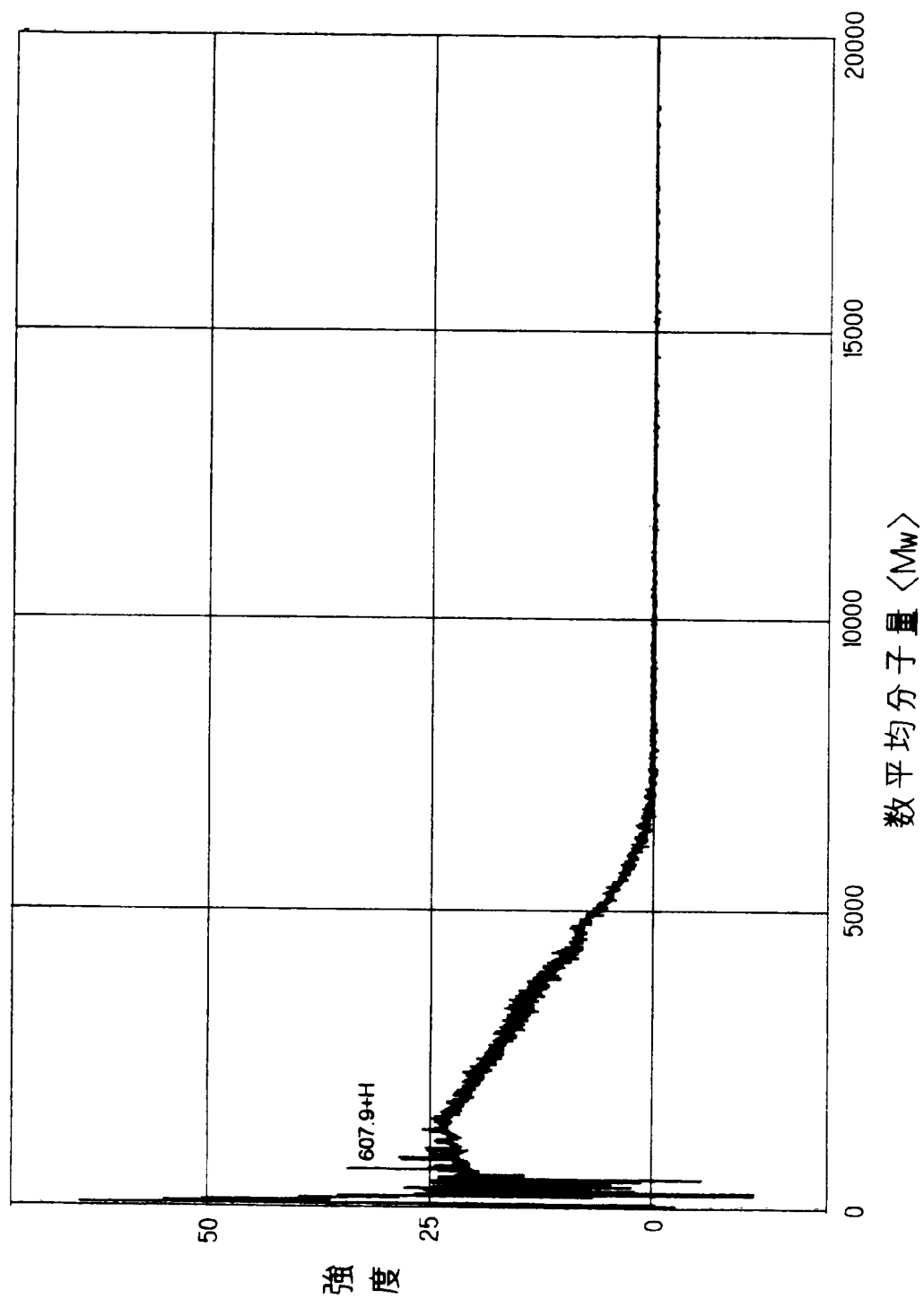
比較例 1 で得られた、蛋白質分解処理と除去処理とを施した脱蛋白天然ゴムラテックスについての、残存する蛋白質および蛋白質分解物の数平均分子量 $\langle M_n \rangle$ の測定結果を示すチャート図である。

【図 4】

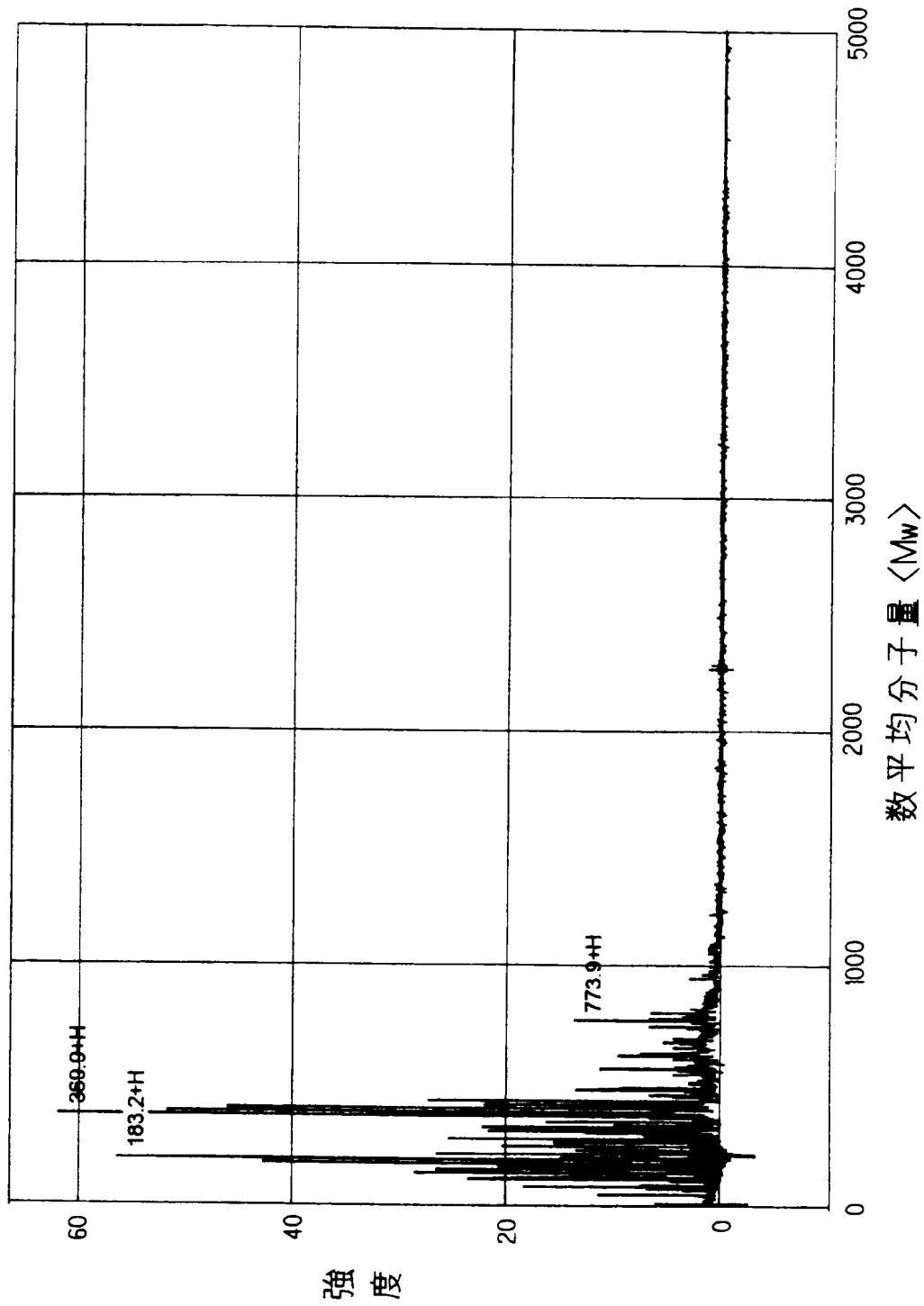
ハイアンモニア処理ラテックス中に存在する蛋白質についての数平均分子量 $\langle M_n \rangle$ の測定結果を示すチャート図である。

【書類名】 図面

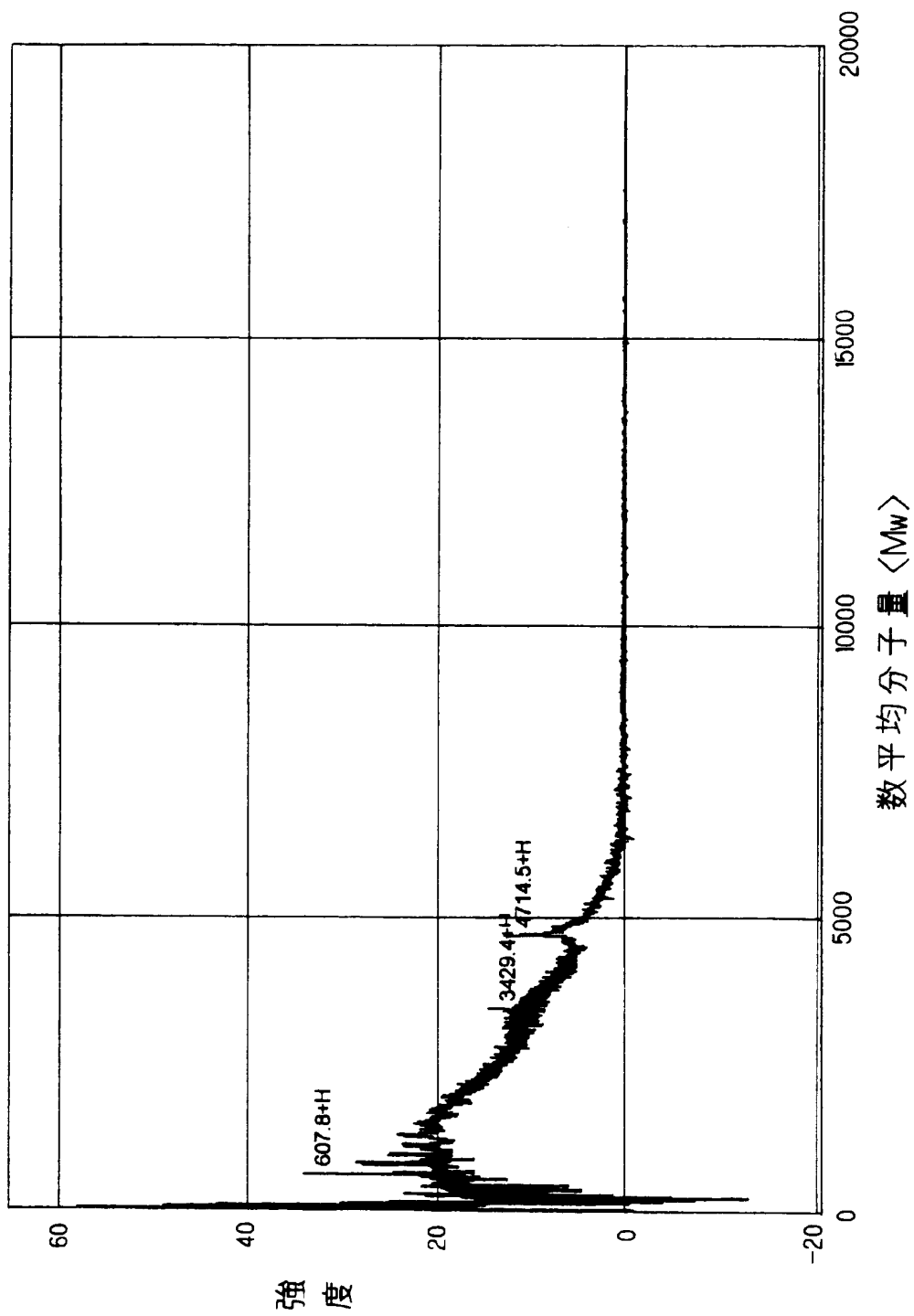
【図 1】



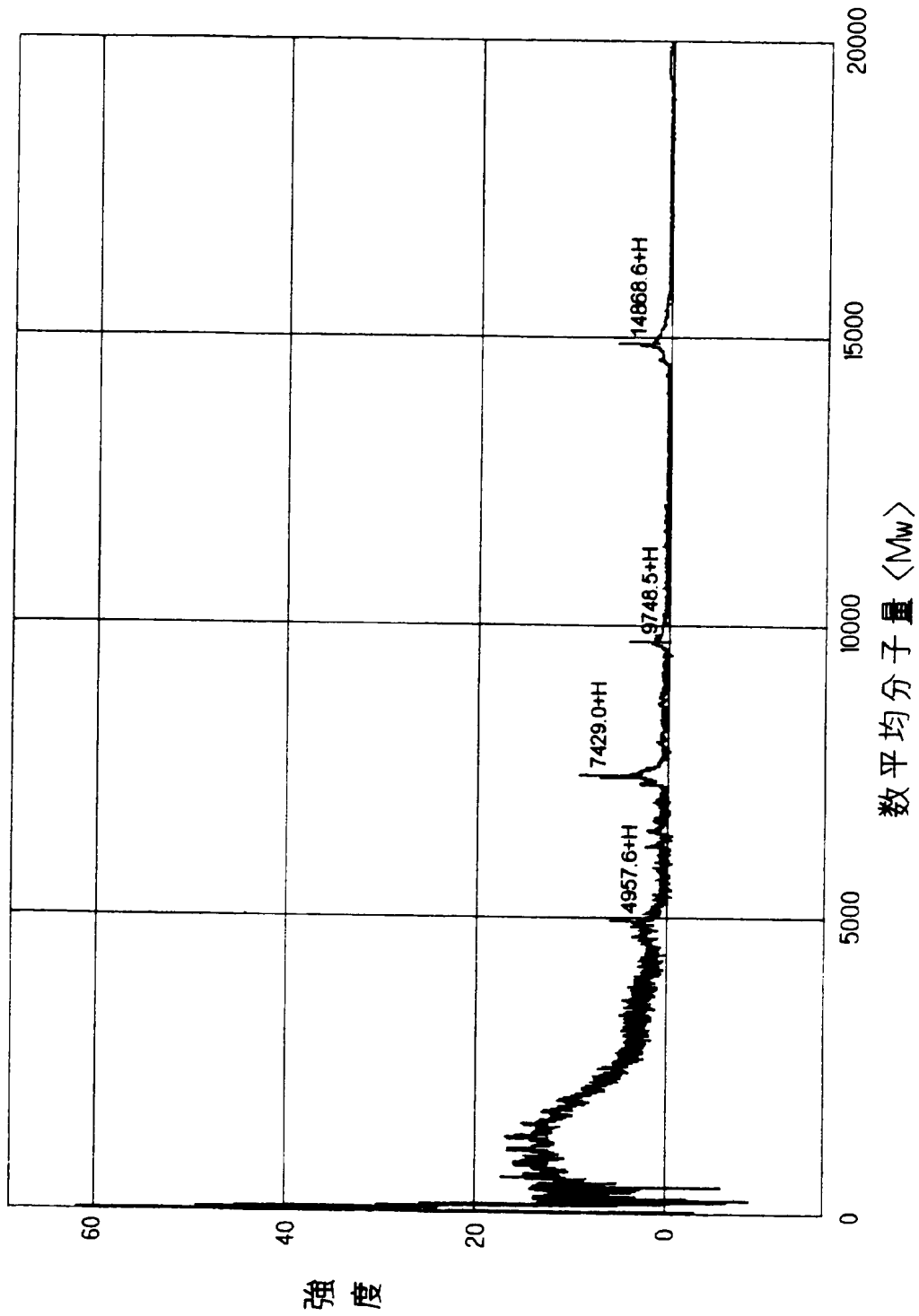
【図 2】



【図 3】



【図 4】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 アレルギーを誘発するおそれが極めて低い天然ゴムラテックスの製造方法を提供する。

【解決手段】

天然ゴムラテックスにエキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼを添加して熟成させることにより、当該ラテックス中の蛋白質を、数平均分子量が4500以上である蛋白質および蛋白質分解物が検出されないレベルにまで分解する。

【選択図】 なし

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2 0 0 0 - 3 4 0 7 2 9
受付番号	5 0 0 0 1 4 4 3 8 7 1
書類名	特許願
担当官	林本 光世 2 3 0 5
作成日	平成 1 2 年 1 1 月 1 0 日

<認定情報・付加情報>

【特許出願人】

【識別番号】	000183233
【住所又は居所】	兵庫県神戸市中央区脇浜町 3 丁目 6 番 9 号
【氏名又は名称】	住友ゴム工業株式会社

【特許出願人】

【識別番号】	000000918
【住所又は居所】	東京都中央区日本橋茅場町 1 丁目 1 4 番 1 0 号
【氏名又は名称】	花王株式会社

【代理人】

申請人	
【識別番号】	100075155
【住所又は居所】	大阪市中央区南本町 4 丁目 5 番 2 0 号 住宅金融 公庫・住友生命ビル あい特許事務所
【氏名又は名称】	亀井 弘勝

【選任した代理人】

【識別番号】	100087701
【住所又は居所】	大阪市中央区南本町 4 丁目 5 番 2 0 号 住宅金融 公庫・住友生命ビル あい特許事務所
【氏名又は名称】	稲岡 耕作

【選任した代理人】

【識別番号】	100101328
【住所又は居所】	大阪市中央区南本町 4 丁目 5 番 2 0 号 住宅金融 公庫・住友生命ビル あい特許事務所
【氏名又は名称】	川崎 実夫

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [0 0 0 1 8 3 2 3 3]

1. 変更年月日 1 9 9 4 年 8 月 1 7 日

[変更理由] 住所変更

住 所 兵庫県神戸市中央区脇浜町 3 丁目 6 番 9 号

氏 名 住友ゴム工業株式会社

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [0 0 0 0 0 0 9 1 8]

1. 変更年月日 1 9 9 0 年 8 月 2 4 日

[変更理由] 新規登録

住 所 東京都中央区日本橋茅場町 1 丁目 1 4 番 1 0 号

氏 名 花王株式会社